

1 . 研究課題名 :

ヒト一次視覚野における刺激頻度と BOLD 信号応答との関係

2 . 研究機関 :

秋田県立脳血管研究センター

3 . 研究者名と所属 :

柏倉健一 (科学技術振興事業団秋田研究室)

4 . 研究協力者名と所属 :

Xiaojing Zhang (科学技術振興事業団秋田研究室)

Jeff Kershaw (科学技術振興事業団秋田研究室)

柏倉明美 (科学技術振興事業団秋田研究室)

菅野巖 (秋田県立脳血管研究センター)

5 . 研究期間 : 1997 年 2000 年

6 . 要約

チェッカーボード及びフリッカー・パターンの刺激頻度を変化させた時のヒト一次視覚野における hemodynamic 応答を BOLD 信号を用いて測定、評価した。この結果、得られた BOLD 信号応答は刺激頻度及び刺激パターン (空間周波数) の関数であることが示された。また、その BOLD 応答特性は視覚伝達経路の応答特性及びその選択性を反映していることが示唆された。

7 . 研究目的

1990 年、Ogawa らにより脳機能の測定を目的とした機能的磁気共鳴画像法 (functional magnetic resonance imaging、fMRI) が報告された [1]。本撮影法は T2* 強調画像を高速かつ大量に撮像する必要があるため、機器に対する負荷が高く、当初一般には普及していなかった。しかし、その後のハード、ソフト面での改良とともに臨床マシンでの測定が可能となり、現在脳神経科学の研究に広く応用されるようになった。脳賦活検査 (functional activation study) 自体は 1980 年代後半よりポジトロン断層法 (positron emission tomography、PET) を用いて行われていたが、PET 検査は MRI 検査と比較し、被験者の被曝、時間、空間分解能、検査の簡便性の点で不利である。このため、現在では fMRI で施行が困難な一部の測定を除き fMRI 検査を用いることが主流となりつつある。

脳賦活検査は被験者に刺激や課題を与えることにより、特定の脳機能を引き起こし (賦活)、これに関連する脳活動を選択的にとらえる方法である。この検査の主要な目的として脳機能局在説にもとづいた“ 脳機能マッピング ” が挙げられる。この場合、特定の刺激や課題を与えたときに特異的に脳血流量 (cerebral blood flow、CBF) が増加する空間領域を決定することが主たる目的となる。これまでに、視覚野、運動野、

聴覚野、感覚野といった一次領野をはじめ、記憶、言語、注意、認識、感情といった高次脳機能に関係する領野の特定が試みられている。この他にも、刺激に対する特定領域の時間応答特性に主眼をおいた検討も行われている。刺激によって生じた賦活領域の応答は実は時間とともに変化している可能性があり、PET では測定不可能であったこれらのダイナミクスを fMRI を用いて解明することはきわめて重要と考えられる。

PET 及び fMRI を用いた脳賦活検査は、脳の特定領域における血流量の増加、あるいはこれに伴う血中還元ヘモグロビン濃度の相対的低下 (blood oxygenation level-dependent、BOLD) [2]を測定することにより、その領域と空間的に対応する神経活動領域を間接的に推定するという手法を用いている。神経興奮に伴う脳血流量の増加という現象は実は 1 世紀以上も前に Roy と Sherrington により報告されたが [3]、その妥当性は経験的に確認されたにすぎず、未だに機序の解明は進んでいない。そこで本論とこれに続く 4 章では、この手がかりを得るために、脳神経活動とこれに対応して変化する脳血行動態 (brain hemodynamics) との関係について考察することを主たる目的とした。

1984 年に報告された Fox らの論文[4]により、視覚刺激に対するヒト一次視覚野の応答特性は刺激頻度依存性を持つことが示された。その後報告された fMRI 研究[5~7]でも一次視覚野の応答特性は刺激頻度依存性を持ち、かつ最大血流応答が 8 Hz にあることが確認された。ただし、彼らは視覚刺激として発光ダイオード (LED) を用いたフリッカー刺激を用いており、近年 fMRI 研究で最も普及している白黒反転チェッカーボード刺激に対するヒト一次視覚野の応答特性はこれまで報告されていない。そこで本章では白黒チェッカーボード・パターンの刺激頻度を変化させたときの BOLD 信号応答特性を測定し、さらに、フリッカー刺激とチェッカーボード刺激を用いてその応答特性の違いを比較することを目的とした。

8 . 材料と方法

1) 対象及び実験パラダイム

パラダイム I

21~37 歳までの健常成人 11 名を対象とした。本パラダイムでは白黒反転チェッカーボード・パターン(視野角 = $13.7^{\circ} \times 18.9^{\circ}$ 、各マトリクス・サイズ = $2.5^{\circ} \times 2.5^{\circ}$)のみを用いた。刺激頻度 (周波数) は 4、6、8、10、12、14 Hz の 5 通りを用い、被験者ごとにランダムに収集した。各シリーズの撮影に当たり 8 フレームのコントロール (黒地の中心に固視点を設定) の後、チェッカーボード刺激とコントロールをそれぞれ 10 フレーム (30 秒) ごとに繰り返し、合計 120 フレーム (6 周期) 撮影した。最初の 8 フレームはスピン飽和の影響を受けているためデータ解析より除外した。

パラダイム II

23~41 歳までの健常成人 13 名を対象とした。なお、パラダイム I と II の被験者は 1 人を除いて重複していない。各シリーズ撮影に当たり 10 フレーム (30 秒) のコントロールの後、チェッカーボード刺激とコントロールをそれぞれ 10 フレームごとに繰り返し、合計 110 フレーム撮影した。最初の 10 フレームはスピン飽和の影響を除去するために除外した。刺激パターンとしてマトリクス・サイズが異なる 2 種類の白黒反転チェッカーボード・パターン (視野角 = $13.7^{\circ} \times 18.9^{\circ}$ 、マトリクス・サイズ = $2.5^{\circ} \times 2.5^{\circ}$ 、及び $0.62^{\circ} \times 0.62^{\circ}$) 及びフリッカー・パターン (視野角 = $13.7^{\circ} \times 18.9^{\circ}$ 、全面赤色刺激を 5 ms 付与) の 3 種類を用いた。被験者の疲労、動き等を考慮し、総施行回数を 10 回以内とするため、刺激頻度を 3 周波数 (4、8、12 Hz) に制限した。

各被験者に関しては検査の目的及び内容を十分に説明し、同意書を得た。本検査については秋田県立脳血管研究センター倫理委員会の承認を得た上で行った。

視覚刺激パターンはマッキントッシュ・コンピュータ (Macintosh 8500/180、Apple Inc.、San Diego、USA) にインストールした MacStim2.2.7 (WhiteAnt Occasional Publishing、Melbourne、Australia) を用いて作成した。

可動ベッド上の被験者足部に半透明スクリーン (Resonance Technology、Inc.、Van Nuys、USA) を設置し、検査室外部より磁気シールド窓を通して刺激パターンを投影した。投影にはカラー液晶プロジェクター (EPSON ELP-5000、Tokyo、Japan) を用いた。また、刺激及びコントロール・パターンの中心には固視点を設けた。被験者は騒音防止のためにヘッドホンを装着し、撮影中の頭部の動きを押さえるために頭部固定パッド及びテープを使用した。

2) 収集条件

頭部用標準コイルを装着した臨床用 1.5T MRI 装置 (Siemens Magnetom Vision、Erlangen、Germany) を用い、シングル・ショット・エコープラナー (echo planar imaging、EPI) 撮影法で撮像を行った。収集条件は以下の通りである。TR = 3 sec、TE = 66 msec、フリップ角 = 90° 、マトリクス・サイズ = 128×128 、撮影領域 (FOV) = $230 \text{ mm} \times 230 \text{ mm}$ 、鳥距溝に平行に 5 mm 厚で 5 スライス of 撮影を行った。また、スライス間隙を 1 mm とした。

3) データ解析

データ解析にはミネソタ大学の STIMULATE 解析ソフトウェア [8] を用いた。統計解析を行う前にプログラム上で頭部の動きの検出を行い、0.15 ピクセル以上の動きが確認されたデータは破棄した。統計解析には、相互相関関数法 (cross-correlation) [9] を用いた。参照関数は hemodynamic 遅延を 6 秒と見なした “box-car” 関数を用いた。相関係数 0.3 を用いてピクセルごとの検定を行い、これ以上の相関関係を示したピクセルを賦活領域と見なした。すなわち、賦活領域とはコントロール時の BOLD

信号強度と比較し、刺激時の BOLD 信号強度が有意に上昇した領域として定義される。賦活領域は、オリジナルの T2*強調画像に重ね合わせ、賦活画像を作成した。この賦活画像の一次視覚野に対し関心領域を設定した。同一被験者には同一関心領域を用いた。関心領域中の全賦活領域を用いて平均時間信号強度曲線（タイムコース）を求め、各刺激頻度に対応する信号変化率を計算した。この後、被験者間で加算平均を行うことにより平均信号変化率を得た。関心領域中の賦活ピクセル数も同時に記録した。解析には Sun Ultra1 ワークステーション(Sun Microsystems、Mountain View、USA) を用いた。

9 . 結果

図 1 及び図 2 にパラダイム I の結果を示す。図 1 では 4 Hz から 14 Hz までの各刺激頻度に対応する平均信号変化率を示した。平均信号変化率の相対変化は 4 %以下となり、明らかなピークは観察されなかった。また、図 2 に関心領域中の賦活ピクセル数を示した。賦活ピクセル数に関してはわずかな刺激頻度依存性を示した。すなわち、6 Hz から 10 Hz にかけて賦活ピクセル数は増加し、10~12 Hz で弱いピークを示した。

図 3 及び図 4 にパラダイム II の結果を示す。図 3 に 4、8、12 Hz に対応する刺激パターン別の平均信号変化率を示した。この図より、提示された刺激パターンの空間周波数が高くなるほど信号変化率が上昇すること、フリッカー刺激で刺激頻度依存性が見られるにもかかわらず、チェッカーボード刺激では確認されないことがわかる。図 4 に関心領域中の賦活ピクセル数を示した。この図より、提示された刺激パターンの空間周波数が高くなるほど賦活ピクセル数が増加すること、4 Hz から 8 Hz にかけて信号変化率は上昇し、かつ 8 Hz から 12 Hz でもわずかに増加することがわかる。

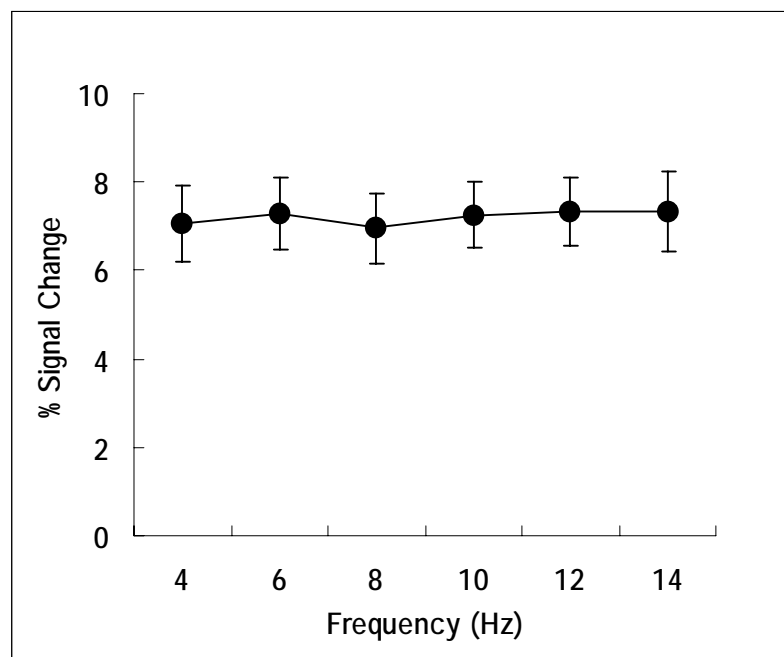


図 1 : 刺激頻度 vs.信号変化率 (n=11)

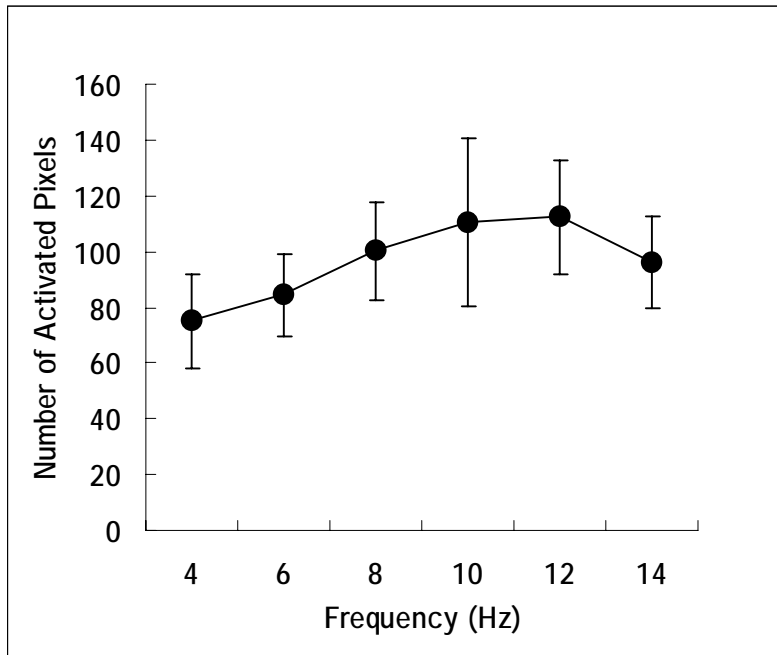


図 2 : 刺激頻度 vs.賦活ピクセル数 (n=11)

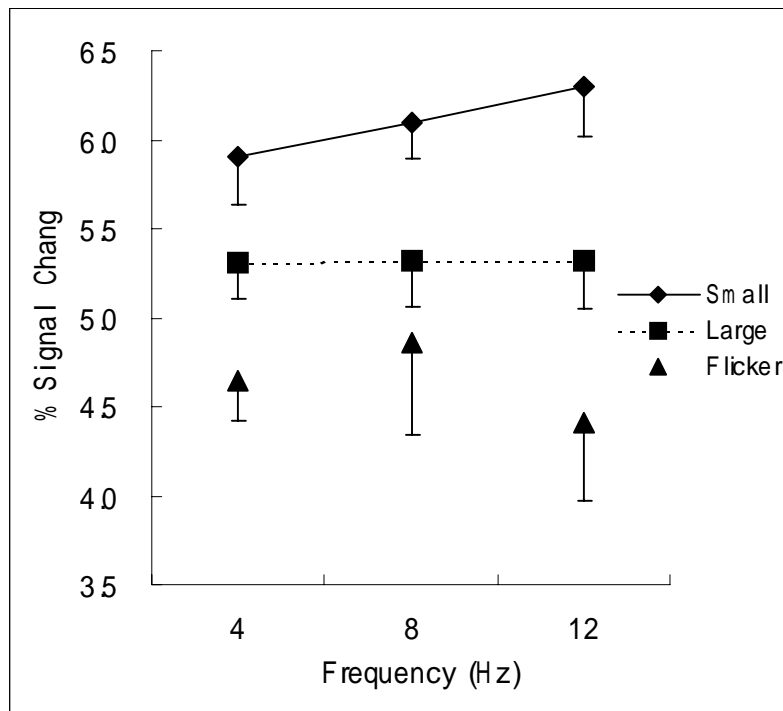


図 3 : 刺激パターン vs.信号変化率 (n=13)

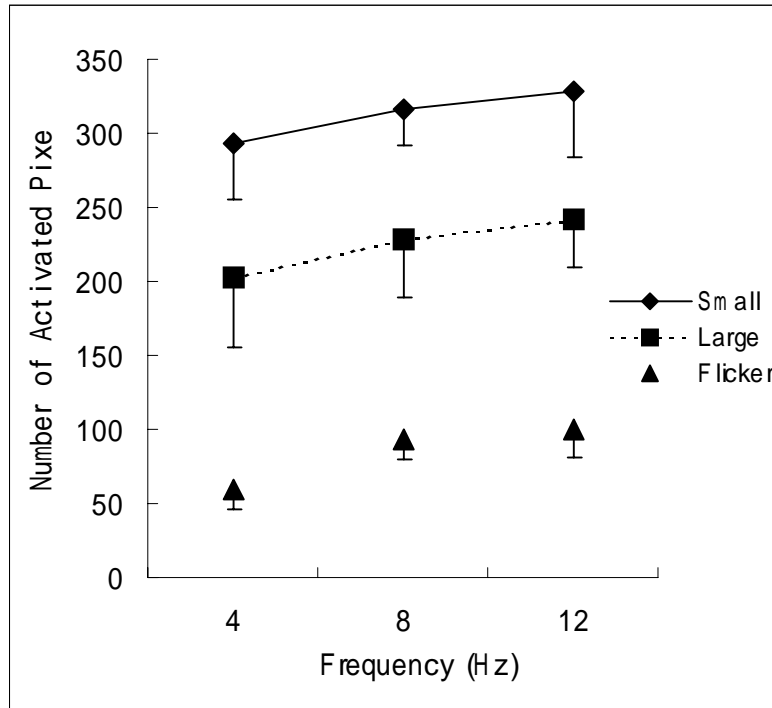


図 4：刺激パターン vs. 賦活ピクセル数 (n=13)

10. 考察

本章の目的は、白黒反転チェッカーボード・パターンの刺激頻度を变化させた場合の一次視覚野における BOLD 信号応答の刺激頻度依存性を測定する。刺激パターン（空間周波数）を变化させた場合の BOLD 信号の刺激頻度依存性を検討することであった。本論が過去の PET、fMRI 報告と異なる点はチェッカーボード及びフリッカー・パターンの両方を用い、その応答特性を比較したことにある。

白黒反転チェッカーボード刺激を用いた場合、4 Hz から 14 Hz の間では刺激頻度依存性は観察されなかった。これまでの fMRI 報告によれば、例えば、2 Hz から 8 Hz までの間に平均信号変化率は約 80 % 増加し [5]、4 Hz から 8 Hz までの間に約 25 % [6] 及び約 30 % [7] の増加を示した。また、これらの研究は一致して 8 Hz にピークを認めている。PET で脳血流量を指標とした研究でも同様な結果（約 40 % 増）が報告されている [4]。これに対し我々の結果は 4 Hz から 8 Hz の間に約 4 % の増加を示したのみで、大きく異なった。

一方、フリッカー刺激の場合、平均信号変化率の増加は 4 Hz から 8 Hz までの間で約 9 % となり、過去の報告と比べやや小さい値であったが、8 Hz において明確なピークを認めた。同時に測定したチェッカーボード刺激では刺激頻度依存性はほとんど見られなかったことから、この応答特性の違いは刺激パターンの違いに起因するものと考えられた。両パターンの違いは刺激色及び空間周波数であるが、一次視覚野に

において刺激色の違いは応答特性の違いをもたらすとは考えにくく（第二章参照）従って、空間周波数の違いが応答特性の違いを生じた可能性が高い。

視覚誘発電位（visual-evoked potential、VEP）を用いた研究[10]では、VEPの振幅は刺激パターンの空間周波数に依存することが示されている。すなわち、フリッカー刺激では10 Hzに明確なピークを認めるが、チェッカーボード刺激では明確なピークは観察されなかった。さらに、ピークを示す刺激頻度はチェッカーボード・パターンの空間周波数により変化したと報告されている。VEPの振幅の違いが、BOLD信号の信号変化率と相関すると仮定すれば（第四章参照）の結果は、今回の我々の結果と一致する。ただし、に関しては、今回のパラダイム II におけるサンプリング周波数が3点しかなかったため直接確認することはできなかった。

刺激パターンによって刺激頻度応答特性が変化する原因としては、網膜から視覚野に至る平行する2系統の視覚伝達経路が関与している可能性がある。視覚伝達経路は網膜から視束交差、外側膝状体を通り、視放線を経て視覚皮質に至るが、この経路は性格の異なる2経路から構成される[11]。網膜のM細胞（M ganglion cell）に端を発するM経路、P細胞（P ganglion cell）に端を発するP経路である。それぞれの細胞は同一刺激パターンに対し感受性が異なることが確認されている。例えば、M細胞はカラー・コントラストに関して感受性は無く、P細胞は持つ。空間周波数に関して、M細胞の感受性は低いが、P細胞では高い。刺激頻度に関しては、M細胞の感受性は高いが、P細胞では低い。従って、本章の実験では、刺激頻度を増加させることによりM細胞をより選択的に刺激し、また、空間周波数を高く（チェッカーボード・パターンの各マトリクス・サイズを小さく）することにより、P細胞をより選択的に刺激したと考えられる。すなわち、本章で観察した結果は、これら2種類の細胞の感受性とその選択性の違いによって説明できると考える。

以上より、過去に報告されている刺激頻度依存性に関する結果は、フリッカー刺激という特定刺激パターンに対する応答特性を示したものであり、これを一次視覚野における一般特性と考えることはできないものと思われた。

12. 参考文献

- [1] Ogawa S, Lee TM, Kay AR and Tank DW (1990) Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **87**, 9868-9872
- [2] Ogawa S, Menon RS, Tank DW, Kim SG, Merkle H, Ellermann JM and Ugurbil K (1993) Function brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging: A comparison of signal characteristics with a biophysical model. Biophys. J. **64**, 803-812
- [3] Roy C and Sherrington C (1890) On the regulation of the blood supply of the brain. J. Physiol. **11**, 85-108

- [4] Fox PT and Raichle ME (1984) Stimulus rate dependence of regional cerebral blood flow in human striate cortex demonstrated by positron emission tomography. *J. Neurophysiol.* **51**, 1109-1120
- [5] Kwong KK, Belliveau JW, Chesler DA, Goldberg IE, Weisskoff RM, Poncelet BP, Kennedy DN, Hoppel BE, Cohen MS, Turner R, Cheng H, Brady TJ and Rosen BR (1992) Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 5675-5679
- [6] Thomas CG and Menon RS (1998) Amplitude response and stimulus presentation frequency response of human primary visual cortex using BOLD EPI at 4 T. *Magn. Reson. Med.* **40**, 203-209
- [7] Zhu XH, Kim SG, Andersen P, Ogawa S, Ugurbil K and Chen W (1998) Simultaneous oxygenation and perfusion imaging study of functional activity in primary visual cortex at different visual stimulation frequency: quantitative correlation between BOLD and CBF changes. *Magn. Reson. Med.* **40**, 703-711
- [8] Strupp JP (1996) Stimulate: A GUI based fMRI analysis software package. *Neuroimage* **3**, abstract p607
- [9] Bandettini PA, Jesmanowicz A, Wong EC and Hyde JS (1993) Processing strategies for time-course data sets in functional MRI of the human brain. *Magn. Reson. Med.* **30**, 161-173
- [10] Regan D (1977) Steady-state evoked potentials. *J. Opt. Soc. Am.* **67**, 1475-1489
- [11] Wurtz RH and Kandel ER (2000) Central visual pathways. *Principles of Neural Science*, pp523-547, edited by Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM, McGraw-Hill.

13 . 研究業績

13-1 . 原著論文 :

- [1] K. Kashikura, X. Zhang, A. Kashikura, J. Kershaw, T. Matsuura, I. Kanno: The relationship between stimulus frequency and BOLD signal response in human V1 (in preparation)

13-2 . 総説など : なし

13-3 . 国際学会発表 :

- [1] X. Zhang, K. Kashikura, A. Kashikura, I. Kanno: Response of BOLD Signal in Human V1 Area with Varied Stimulus Duration: An Event-Related fMRI Study.

International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Eighth Scientific Meeting, Colorado Convention Center, Denver, Colorado, USA, April 1-7, 2000

13-4 . 国内学会発表 :

[1] X. Zhang, K. Kashikura, A. Kashikura, I. Kanno: BOLD Response in V1 Area with Various Stimulus Duration Measured by An Event-Related fMRI. 日本磁気共鳴医学会第 27 回大会 99 年 9 月 16-18 日、東京

14 . The relationship between stimulus frequency and BOLD signal response in human V1

15 . Akita Research Institute of Brain and Blood Vessels

16 . Kenichi Kashikura (JST Akita)

17 . Xiaojing Zhang (JST Akita)

Jeff Kershaw (JST Akita)

Akemi Kashikura (JST Akita)

Iwao Kanno (Akita Research Institute of Brain and Blood Vessels)

18 . 1996-2000

19 . Abstract

The blood oxygenation level-dependent (BOLD) response to a black and white checkerboard at various reversing frequencies between 4 Hz and 14 Hz was measured in the primary visual cortex using functional magnetic resonance imaging (fMRI). It was found that the amplitude of the BOLD signal was approximately the same for all frequencies in this range but the averaged number of activated pixels showed frequency dependent within the selected region of interest (ROI). The black and white reversing checkerboard instead of photic flicker could be the conflicting findings reason for this result with previous literature. This study may suggest that BOLD response dependence on the temporal frequency could be influenced by visual stimulus pattern.